

FISH法で見る染色体上の特定遺伝子

私達の体の働きを操る遺伝子。これはすべて細胞の中の「染色体」に載り、そのワンセットのことを「ゲノム」といいます。ある遺伝子がどの染色体のどこにあるか？分子生物学と顕微鏡の組み合わせで、それが一目でわかります。

遺伝子と私達の体

ヒトゲノム中の遺伝子総数は25,000~30,000、その遺伝子に指定されるタンパク質が約10万種類と言われています。血液型を決める物質も、アルコールを分解する酵素もタンパク質です。必要なタンパク質が必要な時に、必要な量作られることにより、つまりそれらのタンパク質を指定する遺伝子が「程よく」働くことにより、私達の健康は維持されます。逆に遺伝子が「働きすぎ」たり「肝心な時に働かなかった」時、私達は病気になります。

染色体と遺伝子

遺伝子の本体はDNAであり、染色体とはそのDNAが分配され、タンパク質と一緒に複雑に折りたたまれた繊維(クロマチン)のかたまりです。ヒトでは細胞1個あたり46本の染色体があり、その形や大きさも民族を問わず一定、いわば国際標準です。化学物質や放射線などの環境要因、または他の原因により、その数や形が変わる(染色体異常が起こる)ことがあります。その時遺伝子は、その本来の位置が変わったり失われたりします。これが遺伝子が「程よく」働かなくなる原因の一つと考えられます。ですから、個々の遺伝子が本来どこにあり、それが変化したかどうかを知ることは、病気の予測や診断に重要な意味を持てきます。

FISH法

蛍光色素で目印を付けた遺伝子の断片(プローブ)を染色体と反応させると、そのプローブは染色体上で、自分と同じ遺伝子の位置に結合(ハイブリダ

イズ)する性質があります。このプローブ結合染色体を蛍光顕微鏡で観察すると、その遺伝子が、どの染色体のどの位置にあるかがわかります。この方法を、「蛍光その場分子交雑法=FISH(Fluorescence In Situ Hybridization)法」と呼びます。図1の矢印で示した部分は、FISH法で見えるようにしたヒト染色体上のがん抑制遺伝子p53の位置です。このp53は、がん患者の約半数で働いていないことから、逆にがんから身を守る“守護神”の遺伝子として特に有名です。

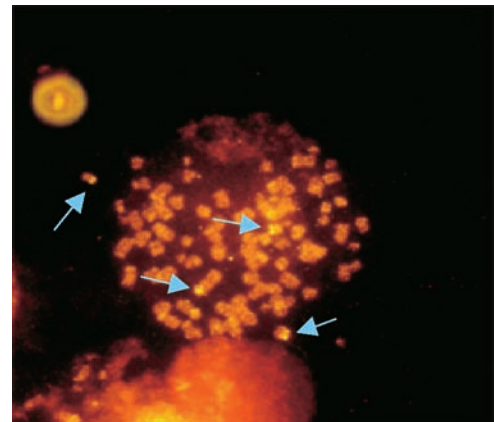


図1 ヒト染色体上のがん抑制遺伝子p53(矢印)通常2ヶ所だが、染色体数の増大したこの細胞の例では4ヶ所見える

一般に遺伝子はクロマチン密度のゆるい所で活発に働いていることが知られています。逆に強く凝縮した所ではあまり、あるいはまったく働きません。このことから、個々の遺伝子の位置とその周辺の局所構造を知ることも重要です。しかしその局所の微細構造を観察するためには、図1にみるように通常の蛍光顕微鏡(光学顕微鏡)では解像力が足りません。そこでこの微細構造と遺伝子の位置情報を高解像度で観察できる装置が次にご紹介する「走査型近接場光学/原子間力顕微鏡=SNOM/AFM(Scanning Near Field Optical/Atomic Force Microscope)」、別名光プローブ原子間力顕微鏡です。

SNOM/AFM

試料に近づけた細い針と、試料表面との間にかかる引力や斥力(原子間力)を検出し、その表面微細構造をナノ・スケールで画像化する原子間力顕微鏡(AFM)については、当TIRIニュースの前身である「テクノ東京21」に何度かご紹介(1999年4月号、2002年3月号)した通りです。SNOM/AFMの原理は図2の概略図に示す通りです。

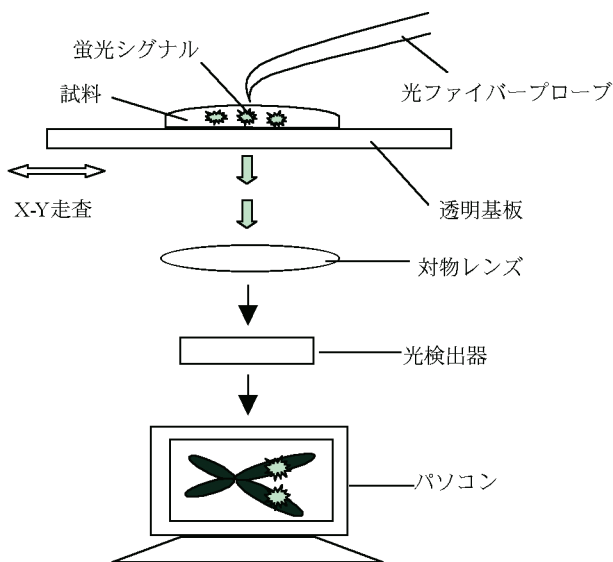


図2 SNOMの概略図 (T. Ohtani et al., Arch. Histol. Cytol. 65(5),425-434 (2002)による)

まず先端に可視光の波長(390~760nm)より短い直径の穴を開けた光ファイバークラウドの中にレーザー光を通し、これを試料表面に近づけると、穴から100nm位まで届く光(近接場光)がにじみ出ます。この光の届く範囲に蛍光物質(で目印を付けたプローブ)があるとそれが光ります。この光を対物レンズで絞って光検出器に導き、ある範囲を走査して得られたシグナルをパソコンのモニター上に表示します。後から同じ範囲をAFM用の探針で走査した画像とシグナルの像とを合成すると、試料の局所微細構造とプローブの位置が同時にわかる、というわけです。

SNOM/AFMによる染色体微細構造とp53遺伝子の観察

図3はヒトリンパ球由来細胞染色体上の、p53遺伝子をSNOM/AFMで観察した像です。図4は図

3の矢印部分の拡大像で、赤と白のスポットがp53のシグナル(白の方が強い)を示します。

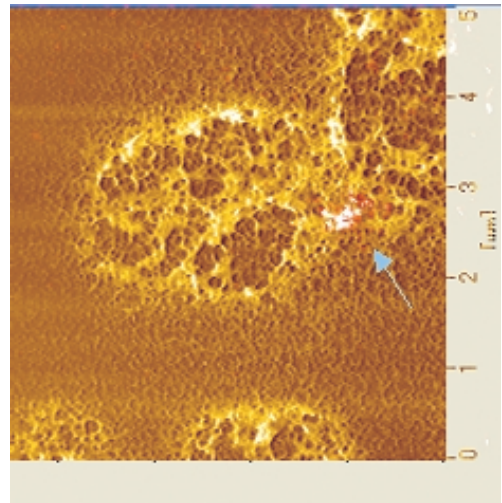


図3 がん抑制遺伝子P53で標識された染色体(矢印部分)

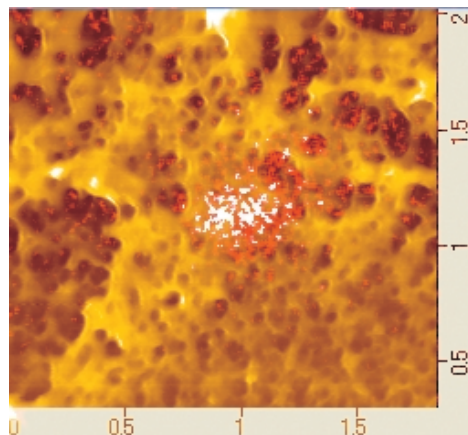


図4 図3の矢印部分の拡大像;赤と白のスポットがp53のシグナル(図3,4とも座標の単位は μm)

「遺伝子の位置と構造」というテーマは、疾病のメカニズム解明の上からも注目を浴びる分野です。なおこの研究は、独立行政法人 食品総合研究所との共同研究として行われました。

研究開発部 ライフサイエンスグループ(駒沢支所)
金城康人 TEL (03)3702-3126 内線585
E-mail: kinjo.yasuhito@iri-tokyo.jp